

10/521940

DT01 Rec'd PCT/PTC 21 JAN 2005

**Notification Concerning
Submission or Transmittal of
Priority Document (Form
PCT/IB/304)**

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

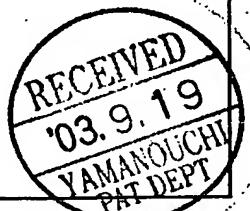
(PCT Administrative Instructions, Section 411)

Date of mailing (day/month/year) 08 September 2003 (08.09.03)	
Applicant's or agent's file reference YHA0332-PCT	
International application No. PCT/JP03/09180	International filing date (day/month/year) 18 July 2003 (18.07.03)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 22 July 2002 (22.07.02)
Applicant YAMANOUCHI PHARMACEUTICAL CO., LTD. et al	

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

NAGAI, Shozo
 c/o Yamanouchi Pharmaceutical Co.,
 Ltd.
 Patent Department
 17-1, Hasune 3-chome
 Itabashi-ku, Tokyo 174-8612
 Japan



1. The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
3. An asterisk(*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
4. The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
22 July 2002 (22.07.02)	2002-211951	JP	05 Sept 2003 (05.09.03)

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Farid ABOU
Facsimile No. (41-22) 338.70.10	Telephone No. (41-22) 338 8169

18.07.03

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

REC'D 05 SEP 2003

WIPO

PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2002年 7月22日
Date of Application:

出願番号 特願2002-211951
Application Number:
[ST. 10/C]: [JP2002-211951]

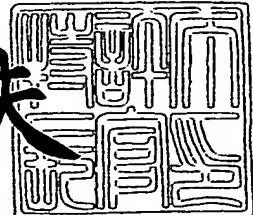
出願人 山之内製薬株式会社
Applicant(s): 針谷 正祥

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 8月21日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 0000003158

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C07K 14/00

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市御幸が丘21 山之内製薬株式会社内

【氏名】 竹内 雅博

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市御幸が丘21 山之内製薬株式会社内

【氏名】 赤松 政彦

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市御幸が丘21 山之内製薬株式会社内

【氏名】 角山 和久

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市御幸が丘21 山之内製薬株式会社内

【氏名】 山地 昇

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市御幸が丘21 山之内製薬株式会社内

【氏名】 高崎 淳

【発明者】

【住所又は居所】 東京都新宿区河田町10-22 東京女子医科大学附属
膠原病リウマチ痛風センター内

【氏名】 針谷 正祥

【特許出願人】

【識別番号】 000006677

【氏名又は名称】 山之内製薬株式会社

【特許出願人】

【住所又は居所】 東京都新宿区河田町10-22 東京女子医科大学附属
膠原病リウマチ痛風センター内

【氏名又は名称】 針谷 正祥

【代理人】

【識別番号】 100089200

【弁理士】

【氏名又は名称】 長井 省三

【選任した代理人】

【識別番号】 100109357

【弁理士】

【氏名又は名称】 矢野 恵美子

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 005348

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 慢性関節リウマチ関連新規遺伝子

【特許請求の範囲】

【請求項1】 (1) 配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列を含み、しかも、慢性関節リウマチ患者特異的に発現が増強するポリペプチド、あるいは、(2) 配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列において、1または数個のアミノ酸が置換、欠失、及び／又は挿入されたアミノ酸配列を含み、しかも、慢性関節リウマチ患者特異的に発現が増強するポリペプチド。

【請求項2】 配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド。

【請求項3】 請求項1または、請求項2に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

【請求項4】 請求項3に記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクター。

【請求項5】 請求項4に記載の発現ベクターで形質転換された細胞。

【請求項6】 請求項1または請求項2に記載のポリペプチドに結合する抗体。

【請求項7】 配列番号1、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、または配列番号11で表されるポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズし、少なくとも15塩基を有するポリヌクレオチド。

【請求項8】 (1) 被験者の滑膜生検サンプルにおける、請求項3に記載の塩基配列を含む遺伝子の発現レベルを測定する工程、及び(2) 健常者または非慢性関節リウマチ患者の滑膜生検サンプルにおける前記遺伝子の発現レベルと比較する工程
を含むことを特徴とする、関節リウマチの検査方法。

【請求項9】 請求項3で表される遺伝子を特異的に增幅できるように設計した順方向及び逆方向プライマーを含む慢性関節リウマチ検査用キット。

【発明の詳細な説明】**【0001】****【発明の属する技術分野】**

本発明は、慢性関節リウマチ（RA）に関連する新規なポリペプチド、該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドを含有するベクター、該ベクターを含有する形質転換細胞及びRA診断に有用な検査方法に関するものである。

【0002】**【従来の技術】**

RAは滑膜組織に病変の主座を持ち、関節の発赤、腫脹、熱感、疼痛、運動制限、および破壊をもたらす原因不明の慢性炎症性疾患である。RAの滑膜組織では、インターロイキン-1（interleukin-1、IL-1）、インターロイキン-6（IL-6）、インターロイキン-8（IL-8）、インターロイキン-12（IL-12）、インターロイキン-15（IL-15）、インターロイキン-18（IL-18）、腫瘍壞死因子 α （tumor necrosis factor- α 、TNF- α ）などの炎症性サイトカイン、一酸化窒素（nitric oxide、NO）、プロスタグランジン（prostaglandins、PGs）などの過剰産生が知られている（Bucala R. et al., J. Exp. Med. 1991 173 p569-574.）。また、滑膜組織を構成する免疫担当細胞はCD40/CD40リガンド系、ICAM-1（intercellular adhesion molecule-1）/LFA-1（leukocyte adhesion molecule-1）系などの細胞表面分子を介して相互に活性化しあい、炎症反応の遷延に関与すると考えられている（Wallberg-Jonsson, S. et al., J. Rheumatol. 2002 29 p875-882）。近年、モノクローナル抗体、可溶性受容体などを用い、IL-1、IL-6やTNF- α を標的とした治療法が開発されその有効性が注目を集めている（Haraoui, B. et al., Curr Pharm Biotechnol 2000 1 p217-233）。しかし、従来の治療標的分子を機序とする治療法では完全寛解導入には至らない患者群が存在する（Feldmann, M. Nature Rev Immunol 2002 2 p364-371）。従って、既存の報告とは異なる新しい治療標的分子の同定が望まれている。

また、米国の大学からRAの分類に関する基準が定義されているが（Medicine, ed. Axford, J., Blackwell Science 1996 pp3.18-3.22）、これらの基準は単なるラン

ドマークであり、その病状パターンが多様であるため、RAの診断、特に定量的かつ簡便な診断は困難であるとされてきた。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、RAで発現量が亢進している新規分子を提供することを課題とする。

【0004】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意研究を重ねた結果、ヒトRA患者滑膜組織において発現量が亢進している新規遺伝子全長配列を決定することに成功した。さらに、該遺伝子特異的なポリメラーゼ連鎖反応（PCR）プライマーを用いることによりRA診断法として有用な検査方法を可能にした。

【0005】

すなわち本発明は、

[1] (1) 配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列を含み、しかも、慢性関節リウマチ患者特異的に発現が増強するポリペプチド、あるいは、(2) 配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列において、1または数個のアミノ酸が置換、欠失、及び／又は挿入されたアミノ酸配列を含み、しかも、慢性関節リウマチ患者特異的に発現が増強するポリペプチド、

[2] 配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

[3] [1] または、[2] に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、

[4] [3] に記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクター、

[5] [4] に記載の発現ベクターで形質転換された細胞、

[6] [1] または、[2] に記載のポリペプチドに結合する抗体、

[7] 配列番号1、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、または配列番号11で表されるポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズし、少なく

とも15塩基を有するポリヌクレオチド、

[8] (1) 被験者の滑膜生検サンプルにおける、[3]に記載の塩基配列を含む遺伝子の発現レベルを測定する工程、及び(2) 健常者または非慢性関節リウマチ患者の滑膜生検サンプルにおける前記遺伝子の発現レベルと比較する工程を含むことを特徴とする、関節リウマチの検査方法、

[9] [3]で表される遺伝子を特異的に增幅できるように設計した順方向及び逆方向プライマーを含む慢性関節リウマチ検査用キット、
に関する。

【0006】

【発明の実施の形態】

以下に本発明について詳細に説明する。

本発明のポリペプチドには、

(1) 配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド；

(2) 配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列を含み、しかも、RA患者特異的に発現が増強するポリペプチド、あるいは、配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列において、1～10個のアミノ酸が置換、欠失、及び／又は挿入されたアミノ酸配列を含み、しかも、RA患者特異的に発現が増強するポリペプチド；（以下、機能的等価改変体と称する）；及び

(3) 配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列との相同性が90%以上であるアミノ酸配列を有し、しかも、RA患者特異的に発現が増強するポリペプチド（以下、相同ポリペプチドと称する）；

が含まれる。

【0007】

「本発明の機能的等価改変体」としては、「配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列を

含み、しかも、RA患者特異的に発現が増強するポリペプチド」、あるいは、「配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列において、1～10個、好ましくは1～7個、更に好ましくは1～5個のアミノ酸が置換、欠失、及び／又は挿入されたアミノ酸配列を含み、しかも、RA患者特異的に発現が増強するポリペプチド」が含まれる。

「本発明の相同ポリペプチド」は、「配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列との相同性が90%以上であるアミノ酸配列からなり、しかも、RA患者特異的に発現が増強するポリペプチド」である限り、特に限定されるものではないが、該相同性が、好ましくは95%以上、更に好ましくは98%以上であるアミノ酸配列からなるポリペプチドが好ましい。

なお、本明細書における前記「相同性」とは、BLASTパッケージ [sg3
2bit版、バージョン2.0.12; National Center for Biotechnology Information (NCBI) より入手] のblastseqプログラム (Tatiana A. Tatusova, Thomas L. Madden, FEMS Microbiol. Lett., 174, 247-250, 1999) を用いて得られた値を意味する。なお、パラメーターでは、ペアワイズアラインメントパラメーターとして、

「プログラム名」として「blastp」を、

「Gap挿入Cost値」を「0」で、

「Gap伸長Cost値」を「0」で、

「Matrix」として「BLOSUM62」を、

それぞれ使用する。

本発明の機能的等価改変体および相同ポリペプチドの起源はヒトに限定されない。例えば、配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列のヒトにおける変異体が含まれるだけでなく、ヒト以外の生物（例えば、マウス、ラット、ハムスター、又はイヌ）由来の機能的等価改変体または相同ポリペプチドが含まれる。更には、それら

の天然ポリペプチド（すなわち、ヒト由来の変異体、又はヒト以外の生物由来の機能的等価改変体または相同ポリペプチド）あるいは、配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列を元にして遺伝子工学的に人為的に改変したポリペプチドなどが含まれる。なお、本明細書において「変異体」（variation）とは、同一種内の同一ポリペプチドにみられる個体差、あるいは、数種間の相同ポリペプチドにみられる差異を意味する。

「RA患者特異的に発現が増強する」とは、非RA患者に比してRA患者の滑膜組織または滑膜線維芽様細胞において発現が2倍以上増強することを意味する。

【0008】

以上、本発明のポリペプチドについて説明したが、配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸からなるポリペプチド、本発明の機能的等価改変体、及び本発明の相同ポリペプチドを総称して、以下、「本発明のポリペプチド」と称する。「本発明のポリペプチド」のうち、配列番号2で表されるアミノ酸からなるポリペプチドである蛋白質を「RA2蛋白質」、配列番号4で表されるアミノ酸からなるポリペプチドである蛋白質を「RA3蛋白質」、配列番号6で表されるアミノ酸からなるポリペプチドである蛋白質を「DGPP1L蛋白質」、配列番号8で表されるアミノ酸からなるポリペプチドである蛋白質を「DGPP1S蛋白質」、配列番号10で表されるアミノ酸からなるポリペプチドである蛋白質を「DGPP2L蛋白質」、配列番号12で表されるアミノ酸からなるポリペプチドである蛋白質を「DGPP2S蛋白質」と称する。

本発明のポリペプチドとしては、「配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド」、「配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列を含み、しかも、RA患者特異的に発現が増強するポリペプチド、あるいは、配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列において、1～10個、好ましくは1～7個、更に好ましくは1～5個のアミノ酸が置換、欠失、及び／又は挿入されたアミノ酸配列を含み、しかも、RA患者

特異的に発現が増強するポリペプチド」あるいは、「配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列との相同性が90%以上（好ましくは95%以上、更に好ましくは98%以上）であるアミノ酸配列からなり、しかも、RA患者特異的に発現が増強するポリペプチド」が好ましく、「配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、または配列番号12で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド」がより好ましい。

【0009】

また、本発明のRA2蛋白質をコードする塩基配列からなるポリヌクレオチドは、配列番号2記載のアミノ酸配列で示されるRA2蛋白質、その機能的等価改変体、又は、その相同ポリペプチドをコードする塩基配列なら何れでもよい。好ましくは、配列番号2記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列からなるポリヌクレオチドであり、さらに好ましくは、配列番号1記載の塩基配列である。

本発明のRA3蛋白質をコードする塩基配列からなるポリヌクレオチドは、配列番号4記載のアミノ酸配列で示されるRA3蛋白質、その機能的等価改変体、又は、その相同ポリペプチドをコードする塩基配列なら何れでもよい。好ましくは、配列番号4記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列からなるポリヌクレオチドであり、さらに好ましくは、配列番号3記載の塩基配列である。

本発明のDGPP1L蛋白質をコードする塩基配列からなるポリヌクレオチドは、配列番号6記載のアミノ酸配列で示されるDGPP1L蛋白質、その機能的等価改変体、又は、その相同ポリペプチドをコードする塩基配列なら何れでもよい。好ましくは、配列番号6記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列からなるポリヌクレオチドであり、さらに好ましくは、配列番号5記載の塩基配列である。

本発明のDGPP1S蛋白質をコードする塩基配列からなるポリヌクレオチドは、配列番号8記載のアミノ酸配列で示されるDGPP1S蛋白質、その機能的等価改変体、又は、その相同ポリペプチドをコードする塩基配列なら何れでもよい。好ましくは、配列番号8記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列からなるポリヌクレオチドであり、さらに好ましくは、配列番号7記載の塩基配列である。

本発明のDGPP2L蛋白質をコードする塩基配列からなるポリヌクレオチドは、配列

番号10記載のアミノ酸配列で示されるDGPP2L蛋白質、その機能的等価改変体、又は、その相同ポリペプチドをコードする塩基配列なら何れでもよい。好ましくは、配列番号10記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列からなるポリヌクレオチドであり、さらに好ましくは、配列番号9記載の塩基配列である。

本発明のDGPP2S蛋白質をコードする塩基配列からなるポリヌクレオチドは、配列番号12記載のアミノ酸配列で示されるDGPP2S蛋白質、その機能的等価改変体、又は、その相同ポリペプチドをコードする塩基配列なら何れでもよい。好ましくは、配列番号12記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列からなるポリヌクレオチドであり、さらに好ましくは、配列番号11記載の塩基配列である。

【0010】

本発明のポリヌクレオチド、本発明のポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチドの製造方法は、特に限定されるものではないが、例えば、（1）PCRを用いた方法、（2）常法の遺伝子工学的手法（すなわちcDNAライブラリーで形質転換した形質転換株から所望のアミノ酸を含む形質転換株を選択する方法）を用いる方法、又は（3）化学合成法などを挙げることができる。各製造方法については、W001/34785に記載されていると同様に実施できる。ただし、上記特許出願明細書における「本発明の新規蛋白」を本発明の蛋白質（すなわち、RA2蛋白質、RA3蛋白質、DGPP1L蛋白質、DGPP1S蛋白質、DGPP2L蛋白質またはDGPP2S蛋白質）、「本発明の遺伝子」を本発明の遺伝子（すなわち、RA2遺伝子、RA3遺伝子、DGPP1L遺伝子、DGPP1S遺伝子、DGPP2L遺伝子またはDGPP2S遺伝子）と読み替える。

PCRを用いた方法では、例えば、前記特許文献の「発明の実施の形態」1)蛋白質遺伝子の製造方法a)第1製造法に記載された手順により、本発明のポリヌクレオチドを製造することができる。本発明の蛋白質を產生する能力を有する細胞あるいは組織、例えば、ヒトRA患者由来滑膜からmRNAを抽出する。次いで、このmRNAをランダムプライマーまたはオリゴdTプライマーの存在下で、逆転写酵素反応を行い、第一鎖cDNAを合成することができる。得られた第一鎖cDNAを用い、目的遺伝子の一部の領域をはさんだ2種類のプライマーを用いてポリメラーゼ連鎖反応(PCR)に供し、本発明のポリヌクレオチドまたはその一部を得ることがで

きる。より具体的には、例えば実施例1に記載の方法により本発明のポリヌクレオチドを製造することが出来る。

常法の遺伝子工学的手法を用いる方法では、例えば、前記特許文献の「発明の実施の形態」1)蛋白質遺伝子の製造方法b)第2製造法に記載された手順により、本発明のポリヌクレオチドを製造することができる。

化学合成法を用いた方法では、例えば、前記特許文献の「発明の実施の形態」1)蛋白質遺伝子の製造方法c)第3製造法、d)第4製造法に記載された方法によって、本発明のポリヌクレオチドを製造することができる。より具体的には、化学合成法によって製造したヌクレオチド断片を結合することによっても製造できる。また、各ポリヌクレオチド（オリゴヌクレオチド）は、DNA合成機（例えば、Oligo 1000M DNA Synthesizer (Beckman社)、あるいは、394 DNA/RNA Synthesizer (Applied Biosystems社)など）を用いて合成することができる。

本発明の発現ベクター、宿主細胞、蛋白質の製造方法は、例えば、前記特許文献の「発明の実施の形態」2)本発明のベクター、本発明の宿主細胞、本発明の組換え蛋白の製造方法に記載された方法により実施できる。単離された本発明のポリヌクレオチドを、適当なベクターDNAに再び組込むことにより、真核生物又は原核生物の宿主細胞を形質転換させることができる。また、これらのベクターに適当なプロモーター及び形質発現にかかる配列を導入することにより、それぞれの宿主細胞においてポリヌクレオチドを発現させることが可能である。

本発明の発現ベクターは、本発明のポリヌクレオチドを含む限り、特に限定されるものではなく、例えば、用いる宿主細胞に応じて適宜選択した公知の発現ベクターに、本発明のポリヌクレオチドを挿入することにより得られる発現ベクターを挙げることができる。

また、本発明の細胞も、本発明の前記発現ベクターでトランスフェクションされ、本発明のポリヌクレオチドを含む限り、特に限定されるものではなく、例えば、本発明のポリヌクレオチドが、宿主細胞の染色体に組み込まれた細胞であることもできるし、あるいは、本発明によるポリヌクレオチドを含む発現ベクターの形で含有する細胞であることもできる。また、本発明のポリペプチドを発現している細胞であることもできるし、あるいは、本発明のポリペプチドを発現している細胞であることもできる。

いない細胞であることもできる。本発明の細胞は、例えば、本発明の発現ベクターにより、所望の宿主細胞をトランスフェクションすることにより得ることができる。より具体的には、例えば、実施例1及び実施例2に記載のように本発明のポリヌクレオチドをほ乳類動物細胞用の発現ベクターpcDNA3.1に組み込むことにより、所望の蛋白質の発現ベクターを得ることができ、該発現ベクターを市販のトランスフェクション試薬リポフェクトアミンを用いてヒト胎児腎臓由来293T細胞に取り込ませて本発明の形質転換細胞を製造することができる。

上記で得られる所望の形質転換細胞は、常法に従い培養することができ、該培養により本発明の蛋白質が生産される。該培養に用いられる培地としては、採用した宿主細胞に応じて慣用される各種のものを適宜選択でき、例えば上記293T細胞であれば牛胎児血清(FBS)等の血清成分を添加したダルベッコ修飾イーグル最小必須培地(DMEM)等の培地にG418を加えたものを使用できる。

上記により、形質転換細胞に生産される本発明の蛋白質は、該蛋白質の物理的性質や生化学的性質等を利用した各種の公知の分離操作法により、分離・精製することができる。

本発明の蛋白質はマーカー配列とインフレームで融合して発現させることで、該蛋白質の発現の確認、精製等が可能になる。マーカー配列としては、例えば、FLAG epitope、Hexa-Histidine tag、Hemagglutinin tag、myc epitopeなどがある。また、マーカー配列と該新規蛋白の間にエンテロキナーゼ、ファクターXa、トロンビンなどのプロテアーゼが認識する特異的なアミノ酸配列を挿入することにより、マーカー配列部分をこれらのプロテアーゼにより切断除去する事が可能である。

本発明のポリヌクレオチドは、それ自体、またはその一部を後述のRAの検査方法においてハイブリダイズプローブとして用いることができ、RAの検査に有用である。また、本発明のポリペプチドは、本発明のポリペプチドを特異的に認識する抗体の作製や、発現レベルを検出・定量する際のコントロールとして用いることができる。

【0011】

<本発明のポリペプチドに結合する抗体>

本発明のポリペプチドに結合する抗体の製造方法は、特に限定されるものではないが、例えば、前記特許文献の「発明の実施の形態」<本発明のポリペプチドに結合する抗体>に記載されていると同様に実施できる。本発明のポリペプチドに反応する抗体、例えばポリクローナル抗体、モノクローナル抗体は、各種動物に該新規蛋白や該新規蛋白の断片を直接投与することで得ることができる。また、本発明新規蛋白をコードする遺伝子を導入したプラスミドを用いてDNAワクチン法 (Raz, E. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, 9519-9523, 1994; Donnelly, J. J. et al., J. Infect. Dis., 173, 314-320, 1996) によっても得ることができる。

ポリクローナル抗体は該新規蛋白またはその断片をフロイント完全アジュバントなどの適当なアジュバントに乳濁し、腹腔、皮下また静脈等に免疫して感作した動物、例えばウサギ、ラット、ヤギ、またはニワトリ等の血清または卵から製造される。このように製造されたポリクローナル抗体は常法の蛋白質単離精製法により、分離精製することができ、常法の蛋白質単離精製法としては例えば、遠心分離、透析、硫酸アンモニウムによる塩析、DEAE-セルロース、ハイドロキシアパタイト、プロテインAアガロース等によるクロマトグラフィー法が挙げられる。

モノクローナル抗体は、ケーラーとミル斯坦の細胞融合法 (Kohler, G. and Milstein, C., Nature, 256, 495-497, 1975) により当業者が容易に製造することが可能である。

【0012】

<本発明のポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチド>
配列番号1、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、または配列番号11で表されるポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズし、少なくとも15塩基を有するポリヌクレオチドも本発明に含まれる。本発明のポリヌクレオチドと「特異的にハイブリダイズする」とは、通常のハイブリダイゼーション条件下、好ましくは厳格な条件下で、本発明のポリヌクレオチドとハイブリダイズし、他のポリヌクレオチドとはハイブリダイズしないことを意味する。厳格な条件とは、ハイブリダイゼーションのための条件として、「5xSSPE、5xDenhard's

液、0.5% SDS、40% ホルムアミド、 $200\mu\text{g}/\text{ml}$ 鮭精子DNA、37°Cオーバーナイト」程度の条件であり、より厳しい条件としては「5xSSPE、5x Denhard's液、0.5% SDS、50% ホルムアミド、 $200\mu\text{g}/\text{ml}$ 鮭精子DNA、42°Cオーバーナイト」程度の条件である。また洗浄のための条件として、緩い条件としては「5xSSC、1% SDS、42°C」、通常「0.5xSSC、0.1% SDS、42°C」程度の条件であり、より厳しい条件としては「0.2xSSC、0.1% SDS、65°C」程度の条件である。このようなポリヌクレオチドは、本発明のポリヌクレオチドを検出、単離するためのプローブとして、また、本発明のポリヌクレオチドを増幅するためのプライマーとして利用することが可能である。プライマーとして用いる場合には、通常、15bp～100bp、好ましくは15bp～40bpの鎖長を有する。プライマーとして好ましい塩基配列は、1) 配列番号25及び配列番号26に記載の塩基配列で表されるプライマー、2) 配列番号27及び配列番号28に記載の塩基配列で表されるプライマー、3) 配列番号29及び配列番号30に記載の塩基配列で表されるプライマー、4) 配列番号31及び配列番号32に記載の塩基配列で表されるプライマーが挙げられる。また、プローブとして用いる場合には、本発明のポリヌクレオチドの少なくとも一部若しくは全部の配列（またはその相補配列）を有し、少なくとも15bpの鎖長のDNAが用いられる。

本発明に基づくプローブやプライマーは、RA診断の検査のための本発明の遺伝子発現量の測定に利用することができる。

本発明に基づいて、本発明のポリヌクレオチドの塩基配列またはその断片を含むオリゴヌクレオチドプローブのアレイを構築することができる。アレイ技法は公知で、遺伝子発現を解析するために用いられている(Chee, M. et al. (1996) Science, 274, 610-613)。

<RAの検査方法／RA検査用キット>

ヒト変形性関節症(OA)患者滑膜組織に比較して、ヒトRA患者滑膜組織において発現量が亢進している新規遺伝子を見出したことから、これらの発現量を利用してRA疾患を検出することができる。RA特異的な現象を捉るために、滑膜組織に病変を有するOAを対照とした。具体的には、次の工程を含む態様が例示される。

すなわち、

(1) 被験者の滑膜生検サンプルにおける、請求項3に記載の塩基配列を含む遺伝子の発現レベルを測定する工程、及び(2) 健常者または非RA患者の滑膜生検サンプルにおける前記遺伝子の発現レベルと比較する工程、である。

本発明のRAの検査方法における遺伝子の発現レベルとは、該遺伝子のmRNAへの転写、並びに蛋白質への翻訳を含む。従って、本発明によるRAの検査方法は、本発明の遺伝子に対応するmRNAの発現レベル、または、該遺伝子によってコードされる蛋白質の発現レベルの比較に基づいて行われる。

工程(1)における請求項3に記載の塩基配列を含む遺伝子の発現レベルを測定する方法は公知の遺伝子解析法に従って実施することが出来る。例えば、本発明の遺伝子にハイブリダイズする核酸をプローブとしたハイブリダイゼーション技術、または、本発明の遺伝子にハイブリダイズするDNAをプライマーとした遺伝子増幅技術等を利用することが出来る。具体的には、被験者から得た滑膜細胞由来の核酸、例えばmRNA等を用いて測定することが出来る。mRNA量の測定は、本発明の遺伝子配列を特異的に増幅できるように設計したプライマーを用いて遺伝子増幅反応方法にて測定できる。遺伝子増幅反応方法としては、特に限定されないが、PCR法、RNAポリメラーゼを利用した核酸増幅法などを利用することが出来る。本発明のRAの検査方法に用いられるプライマー、または、RA検査用キットに含まれるプライマーは、本発明の遺伝子配列を特異的に増幅できるものであれば、特に限定されず、本発明の遺伝子の塩基配列に基づいて設計できる。PCR増幅モニター法におけるプライマー設計は、プライマー設計ソフトウェアPrimer Express (PE Biosystems)などをを利用してできる。また、上記本発明のポリペプチドと特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチドをプライマーとして使用できる。

ハイブリダイゼーション技術を利用したRAの検査は、例えば、ノーザンハイブリダイゼーション、ドットプロット法、DNAマイクロアレイ法などを使用して行うことが出来る。さらには、RT-PCR等の遺伝子増幅技術を利用することができる。RT-PCR法においては、遺伝子の増幅過程においてPCR増幅モニター(リアルタイムPCR)法(Genome Res., 6(10), 986, 1996)を用いることにより、本発明の遺伝

子の発現について、より定量的な解析を行うことが可能である。PCR増幅モニター法としては、例えば、ABI PRISM7900（PEバイオシステムズ社）を用いることが出来る。リアルタイムPCRは公知の方法であり、そのための装置およびキットは市販されており、これらを利用して簡便に行える。より具体的には、実施例4に記載の方法により実施できる。

また、工程（1）において、請求項3に記載の塩基配列を含む遺伝子の発現レベルを測定する方法として、発現レベルを本発明の蛋白質の検出によって測定する方法が可能である。このような検査方法としては、例えば、被験者から得た滑膜細胞由来の細胞抽出液を用いて、本発明の蛋白質に結合する抗体、好ましくは、本発明の蛋白質に特異的に結合する抗体を利用したウエスタンブロッティング、免疫沈降法、ELISA法などを利用することが出来る。

工程（2）においては、工程（1）で得られた発現レベルと健常者または非RA患者における発現レベルと比較するのであれば、比較方法は特に限定されず、例えば実施例4に記載の方法で比較できる。

本発明のRA検査用キットには、少なくとも、本発明のポリペプチドを特異的に増幅できるように設計した順方向及び逆方向プライマーが含まれる。

順方向及び逆方向プライマー対の例としては、上記本発明のポリペプチドと特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチドが挙げられる。本発明のRA検査用キットに含めることができるとされる他の試薬としては、PCRを行うのに必要な試薬（例えば、Taqポリメラーゼ、ヌクレオチド基質、緩衝液など）などを挙げることができる。

【0013】

【実施例】

以下に実施例により本発明を詳述するが、本発明は該実施例によって限定されるものではない。なお、特に断りがない場合は、公知の方法(Sambrook, J. et al, "Molecular Cloning-A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory, NY, 1989) 等の遺伝子操作実験マニュアルや試薬等に添付の指示書に従った。

【0014】

（実施例1）全長オープンリーディングフレーム（open reading frame、ORF）

のクローニングと蛋白質発現プラスミドの構築

表1に示すプライマーセット（配列番号13—配列番号14、配列番号15—配列番号16、配列番号17—配列番号18、配列番号19—配列番号18、配列番号20—配列番号21、又は、配列番号22—配列番号21）、ヒト脾臓由来cDNA（Human spleen 5'-stretch plus cDNA；インビトロジェン社）、及びDNAポリメラーゼ（Pyrobest（商標）DNA polymerase；宝酒造社）を用いて、94℃2分の後、98℃10秒、60℃30秒、72℃1分30秒のサイクルを20回、続いて72℃3分のPCR反応を行った。このPCR産物をフェノールクロロホルム処理し、エタノール沈殿処理し、精製水に溶解した。これらのDNAのうち、プライマーセット配列番号13—配列番号14で増幅したDNAをBamHI-XhoIで二重切断し、その他のDNAをHindIII-XhoIで二重切断した。発現ベクターpcDNA3.1-CFLのBamHI-XhoI又はHindIII-XhoI部位に挿入し、各発現プラスミドをCFL-RA2、CFL-RA3、CFL-DGPP1L、CFL-DGPP1S、CFL-DGPP2L、CFL-DGPP2Sと名付けた。pcDNA3.1-CFLは、pcDNA3.1(+)（インビトロジェン社）のXhoI-XbaI部位に配列番号23及び配列番号24からなる2重鎖オリゴDNAを挿入したプラスミドであり、本プラスミドにより、目的蛋白質にFLAGタグが付加されて発現される。前記各プラスミドの配列をジデオキシターミネーター法により、ABI 3700 DNA シークエンサー（アプライドバイオシステムズ社）を用いて解読したところ、配列番号1、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、又は配列番号11で表される配列が得られた。それぞれの全長ORF配列を決定した。該遺伝子をそれぞれRA2、RA3、DGPP1L、DGPP1S、DGPP2L、及び DGPP2Sと名付けた。推定アミノ酸配列をそれぞれ配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、及び配列番号12に示した。配列番号2で表されるRA2のORFは357アミノ酸からなる新規蛋白質を、配列番号4で表されるRA3のORFは101アミノ酸からなる新規蛋白質を、配列番号6で表されるDGPP1LのORFは313アミノ酸からなる新規蛋白質を、配列番号8で表されるDGPP1SのORFは264アミノ酸からなる新規蛋白質を、配列番号10で表されるDGPP2LのORFは291アミノ酸からなる新規蛋白質を、そして配列番号12で表されるDGPP2SのORF（は271アミノ酸からなる新規蛋白質をコードしていた。

【表1】

	フォワードプライマー (5'末端に制限酵素 BamHI あるいはHindIII認識配列が 付加された配列)	リバースプライマー (5'末端に制限酵素 KpnI 認識配列が付加された配列)
CFL-RA2	配列番号 1 9	配列番号 1 4
CFL-RA3	配列番号 1 5	配列番号 1 6
CFL-DGPP1L	配列番号 1 7	配列番号 1 8
CFL-DGPP1S	配列番号 1 8	配列番号 1 8
CFL-DGPP2L	配列番号 2 0	配列番号 2 1
CFL-DGPP2S	配列番号 2 2	配列番号 2
FLAG	配列番号 2 9	配列番号 2 4

【0015】

(実施例2) 動物細胞株での発現

実施例1において作製した6個の発現プラスミドを、トランスフェクション試薬（リポフェクトアミン；ギブコ社）を用いて、添付指示書に従い293T細胞（インビトロジェン社）にそれぞれ導入した。プラスミド導入後12-16時間で培地を無血清に置換した後、さらに48-60時間培養を継続し、細胞を回収した。回収した細胞に50mM Tris pH7.5, 0.25M NaCl, 10% Glycerol, 1% Triton X-100, 1mM EDTA, 1mM EGTA, 1mM PMSF（シグマ社）から成る溶液を加えて溶解し、エッペンドルフチューブ遠心機（トミー精工社）にて15000回転15分遠心後の上清を回収した。この導入細胞ライゼート中に目的蛋白が存在することをC末端に付加したFLAGタグに対する抗体（マウス抗FLAGモノクローナル抗体M2；シグマ社）を用いたウエスタンプロットティングで確認した。すなわち、上記ライゼートをSDS/4%~20%アクリルアミドゲル（第一化学薬品社）に電気泳動（還元条件）後、プロッティング装置を用いてPVDF膜（ミリポア社）に転写した。転写後のPVDF膜にブロックエース（大日本製薬社）を添加してブロッキングした後、ビオチン化マウス抗FLAGモノクローナル抗体、西洋わさびパーオキシダーゼ標識ストレプトアビシン（アマシャムファルマシア社）を順次反応させた。反応後、ECLウエスタンプロットティング検出システム（アマシャムファルマシア社）を用いて目的蛋白の発現を確認した。RA2、DGPP1L、DGPP1S、DGPP2L、DGPP2Sの各発現プラスミドを導入した細胞のライゼートにおいて、各予想分子量（RA2:40.1kDa、DGPP1L:34.3kDa、DGPP1S:29.5kDa、DGPP2L:32.3kDa、DGPP2S:30.4kDa）付近に位置するバンドが検出され、各導入細胞で目的蛋白質が発現していることがわかった（図1）。RA3はプロリン残基の含有率が高いため、電気泳動上の移動度が低く予想分子量（11.0kDa）よりも大きな分子量で観察された（図1）。

【0016】

(実施例3) 滑膜組織サンプル、滑膜線維芽様細胞サンプルの取得

ヒトRA患者、ヒトOA患者から滑膜生検により滑膜組織、滑膜線維芽様細胞を得た。滑膜組織の調製はHarigai Mらの文献 (J Rheumatol. 1999 May;26(5):1035-43) に、滑膜線維芽様細胞の調製はZhang HGらの文献 (Arthritis Rheum. 2000 May;43(5):1094-105) に従った。G1、G6はヒトRA患者各2名の滑膜組織を混合したサンプルであり、各種病理所見スコアは、表層細胞重層化についてはG1:1.5、G6:0、リンパ濾胞形成についてはG1:2.5、G6:0、血管新生についてはG1:2.0、G6:0.5であった。G7はヒトOA患者2名の滑膜組織を混合したサンプルである。病理所見スコアはHarigai Mら, Clin Immunol Immunopathol. 1993 Oct;69(1):83-91.に基づくものであり、滑膜組織の炎症の程度を反映している。病理所見スコアが高いG1は炎症の程度がG6よりも大きいサンプルである。

RS1、RS2はヒトRA患者各1名の滑膜線維芽様細胞サンプルであり、各種病理所見スコアは、表層細胞重層化についてはRS1:2、RS2:0、リンパ濾胞形成についてはRS1:2、RS2:0、血管新生についてはRS1:3、RS2:2であった。すなわちRS1とRS2の比較において、RS1はRS2よりも炎症の程度が大きいサンプルである。OA1、OA2はヒトOA患者各1名の滑膜線維芽様細胞サンプルである。

【0017】

(実施例4) 滑膜組織、滑膜線維芽様細胞における各遺伝子の発現上昇

ABI PRISM 7900HT Sequence Detection System (PEバイオシステムズ社) (以降 Prism7900とする)によるリアルタイムPCRをPCR検出定量試薬キットSYBR Green PCR Master Mix (PEバイオシステムズ社) を用いてキット添付の指示書に従ってを行い、滑膜組織、滑膜線維芽様細胞における各遺伝子の発現量を定量的に測定した。以下に詳細を述べる。ABI7900による測定に用いたプライマーは、配列番号1、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、または配列番号11に表した配列情報からPrimer Express (PEバイオシステムズ社) により設計した。各遺伝子のプライマーは表2に示した。

【表2】

	フォワードプライマー	リバースプライマー
RA2	配列番号25	配列番号26
RA3	配列番号27	配列番号28
DGFP1L	配列番号29	配列番号30
DGFP1S		
DGFP2L	配列番号31	配列番号32
DGFP2S		
G3PDE	配列番号33	配列番号34

RA滑膜組織（G1及びG6サンプル）、OA滑膜組織（G7サンプル）、RA滑膜線維芽様細胞（RS1及びRS2サンプル）およびOA滑膜線維芽様細胞（OA1及びOA2サンプル）からRNA抽出用試薬ISOGEN(ニッポンジーン社)を用いて全RNA（total RNA）抽出を行った。抽出は、試薬添付のプロトコールに従った。抽出方法の詳細を以下に記載する。100mg の凍結組織に対し、1ml のISOGEN を加え、ホモジナイズ[®]後、5分静置した。0.2ml のクロロホルム（関東化学社）を加え、攪拌後3分静置した。12000xg で4℃にて15分の遠心分離を行った。上清を回収し、0.5ml の2-イソプロパノール（関東化学社）を加え、10分静置した。12000xg で4℃にて10分の遠心分離を行った。上清を除いた後、70%エタノールを1ml加えた。7500xg で4℃にて5分の遠心分離を行った。風乾後、50μl水に溶解した。

抽出した全RNA は、DNase処理キット（RNasey Mini kit、RNase-Free DNase Set；共にキアゲン社）を用い、カラム上でDNase処理を行った。キット添付のプロトコールに従って処理を行った。詳細を以下に記載する。全RNA 溶液に水を加え、100μl とした。次に、350ml のキットに含まれるバッファーRLT を加え攪拌した。次に250μl のエタノールを加え攪拌後、キットに含まれるカラム（RNeasy mini spin column）に加えた。8000xgにて15秒遠心した。350μl のキットに含まれるバッファーRW1 を加え、8000xgにて15秒遠心した。さらに、10μl のDNaseI ストック溶液および70μlのキットに含まれるバッファーRDD を加え、室温で15分静置した。350μl のバッファーRW1 を加え、8000xgにて15秒遠心した。350μl のバッファー RW1 を加え、8000xgにて15秒遠心した。500μl のキットに含まれるバッファーRPE を加え、8000xgにて15秒遠心した。500μl のバッファーRPE を加え、15000xgにて1分遠心した。30μl 水を加え、8000xgにて1分遠心し、全RNA 溶液を得た。

全RNA を鋳型とした逆転写反応により、cDNA を作成した。全RNA (1μg) を10μlのランダムヘキサマー(100ng/μl) （アマシャムファルマシアバイオテク社）

と混合し、最終量が $48\mu l$ となるように水を加えた。70℃で10分処理後、氷上に置いた。次に $32\mu l$ のRT反応混合液を加えた。混合液の組成を以下に示す。5xFirst-Strand Buffer(250mM Tris-HCl pH8.3, 375mM KC1, 15mM MgCl₂), 10mM DTT, 0.5mM dNTP, Superscript II RNase H⁻ reverse transcriptase (800 units) (以上全てGIBCO BRL社)。混合後、25℃15分、42℃50分、70℃15分の処理を行った。

作成したcDNAを鋳型として、以下の実験を進めた。目的遺伝子の各測定サンプル間での相対的発現量を算出するための標準曲線を作成する鋳型として、human genomic DNA (クロントック社)の希釈系列、あるいは各測定サンプルの混合液の希釈系列を用いた。また、サンプル中のcDNA濃度の差を補正するため、補正用内部標準としてG3PDH遺伝子について同様の定量解析を行い、G3PDH遺伝子の発現量を基に補正して、目的遺伝子の発現量を算出した。G3PDHにより補正した各遺伝子の発現量のうち、OA滑膜組織G7サンプルの各遺伝子の発現量を100として、各サンプル、各遺伝子の相対的発現度を算出した。滑膜線維芽様細胞を用いた結果を図2に示した。RA滑膜組織サンプルG1は、OA滑膜組織サンプルG7に比して、RA2、RA3、RA4、DGPP1、及びDGPP2の全ての遺伝子の発現量が有意に亢進していることが明らかとなった。また、RA滑膜組織のうち炎症程度の大きいG1サンプルに比して、前記各遺伝子の発現量が有意に亢進しており、RAの病理所見スコアに連動して前記各遺伝子の発現量が亢進していること、すなわちRAの炎症症状が悪化するほど前記各遺伝子の発現量が亢進していることを見出した。RA滑膜線維芽様サンプルRS1は、OA滑膜線維芽様サンプルOA1及びOA2に比して、RA2、RA3、RA4、DGPP1、及びDGPP2の全ての遺伝子の発現量が有意に亢進していることが明らかとなった。また、RA滑膜線維芽様サンプルのうちRS1サンプル)は、RS2サンプルに比して、前記各遺伝子の発現量が有意に亢進しており、RAの病理所見スコアに連動して前記各遺伝子の発現量が亢進していること、すなわちRAの炎症症状の重篤性と前記各遺伝子の発現量の亢進が相關することを見出した。

これらのことより、本実施例記載の方法でRAの進行度を検出することができ、RA診断の検査が可能であることがわかった。

【0018】

【発明の効果】

本発明のポリヌクレオチドは、その発現亢進がRA病態の程度と結びついていることから、RA診断の指標となることが解かった。本発明のポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドによってコードされる本発明のポリペプチドの発現を指標にすることによりRA診断の検査を行うことが可能となった。本発明のポリヌクレオチド、本発明の抗体、本発明のポリヌクレオチドにハイブリダイズするオリゴヌクレオチドはRA診断の検査に有用である。本発明のポリペプチドは前記検査に有用な本発明の抗体を製造するために有用である。また、本発明は、RA滑膜細胞で発現量が亢進する新規遺伝子を提供するものであり、その特異的なプライマー配列を用いたPCRによりRA診断の検査へ応用できる。

【0019】**【配列表】****SEQUENCE LISTING**

<110> Yamanouchi Pharmaceutical Co.,Ltd.

<120> RA relating novel gene

<130> 3158GPR

<140>

<141>

<160> 34

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 1074

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1071)

<400> 1

atg cag ctc agg aat gtg tca gag caa gaa ctg gac agc gtg gcc atg 48
Met Gln Leu Arg Asn Val Ser Glu Gln Glu Leu Asp Ser Val Ala Met
1 5 10 15

aag ctc ctt cac caa gta agc aag ctg tgt ggg aag tgc agc ccc act 96
Lys Leu Leu His Gln Val Ser Lys Leu Cys Gly Lys Cys Ser Pro Thr
20 25 30

gac gtg gac atc ctg cag ccc tcc ttc aac ttc ctg tat tgg agc ctt 144
Asp Val Asp Ile Leu Gln Pro Ser Phe Asn Phe Leu Tyr Trp Ser Leu
35 40 45

cat cag acc aca ccc agc agt cag aaa aga gct gct gca gtg ctc ctg 192
His Gln Thr Thr Pro Ser Ser Gln Lys Arg Ala Ala Ala Val Leu Leu
50 55 60

agc agc aca ggc ctg atg gag ctt ctg gag aag atg ctg gcc ctc acc 240
Ser Ser Thr Gly Leu Met Glu Leu Leu Glu Lys Met Leu Ala Leu Thr
65 70 75 80

ttg gca aag gca gat tct ccc agg act gca ctc ctc tgc tct gcc tgg 288
 Leu Ala Lys Ala Asp Ser Pro Arg Thr Ala Leu Leu Cys Ser Ala Trp
 85 90 95

ctg ctc act gcc tcc ttc tct gcc cag cag cac aag ggc agt ttg cag 336
 Leu Leu Thr Ala Ser Phe Ser Ala Gln Gln His Lys Gly Ser Leu Gln
 100 105 110

gtt cac cag aca ctc tct gtg gaa atg gac caa gta ttg aag gct ctc 384
 Val His Gln Thr Leu Ser Val Glu Met Asp Gln Val Leu Lys Ala Leu
 115 120 125

agc ttt cca aag aaa aag gct gca cta ctc tca gct gcc atc tta tgc 432
 Ser Phe Pro Lys Lys Ala Ala Leu Leu Ser Ala Ala Ile Leu Cys
 130 135 140

ttc ctg cgg aca gcc ctg cga caa agc ttt tcc tct gcc ctg gta gcc 480
 Phe Leu Arg Thr Ala Leu Arg Gln Ser Phe Ser Ser Ala Leu Val Ala
 145 150 155 160

ctg gtg ccc tca ggg gcc cag cca ctg cca gcc acc aag gac act gtc 528
 Leu Val Pro Ser Gly Ala Gln Pro Leu Pro Ala Thr Lys Asp Thr Val
 165 170 175

cta gct cca ctg cga atg tcg caa gtc cgg tcc ctg gtc att ggg ctg 576
 Leu Ala Pro Leu Arg Met Ser Gln Val Arg Ser Leu Val Ile Gly Leu
 180 185 190

cag aac ctc ctg gtg cag aag gac cct cta ttg tcc cag gcc tgt gtt 624

Gln Asn Leu Leu Val Gln Lys Asp Pro Leu Leu Ser Gln Ala Cys Val

195

200

205

ggc tgc ctg gag gcc ttg ctt gac tac ctg gat gcc cggtt gac cca gac 672

Gly Cys Leu Glu Ala Leu Leu Asp Tyr Leu Asp Ala Arg Ser Pro Asp

210

215

220

att gct ctc cac gtg gcc tcc cag cct tgg aat cggtt ttg ctg ttt 720

Ile Ala Leu His Val Ala Ser Gln Pro Trp Asn Arg Phe Leu Leu Phe

225

230

235

240

acc ctc ttg gat gct gga gag aat tcc ttc ctc aga cct gag att ttg 768

Thr Leu Leu Asp Ala Gly Glu Asn Ser Phe Leu Arg Pro Glu Ile Leu

245

250

255

agg ctc atg acc ctg ttt atg cggtt tac cggtt agt agc agt gtc ctc tct 816

Arg Leu Met Thr Leu Phe Met Arg Tyr Arg Ser Ser Ser Val Leu Ser

260

265

270

cat gaa gag gtg ggt gat gtt ctg caa ggt gtg gct ttg gct gac ctg 864

His Glu Glu Val Gly Asp Val Leu Gln Gly Val Ala Leu Ala Asp Leu

275

280

285

tct acc ctc tcg aac acc aca ctc cag gcc ctg cat ggc ttc ttc cag 912

Ser Thr Leu Ser Asn Thr Thr Leu Gln Ala Leu His Gly Phe Phe Gln

290

295

300

cag ctc cag agc atg gga cac ctg gct gac cac agc atg gcc cag acc 960

Gln Leu Gln Ser Met Gly His Leu Ala Asp His Ser Met Ala Gln Thr

305

310

315

320

ctg cag gcc tcc ttg gag ggc ctt ccc cct agc acc tcc tca ggc cag 1008

Leu Gln Ala Ser Leu Glu Gly Leu Pro Pro Ser Thr Ser Ser Gly Gln

325

330

335

cca ccc ctg cag gac atg ctc tgc ctg gga ggg gtg gct gta tcc ctg 1056

Pro Pro Leu Gln Asp Met Leu Cys Leu Gly Gly Val Ala Val Ser Leu

340

345

350

tcc cac atc aga aac tga 1074

Ser His Ile Arg Asn

355

<210> 2

<211> 357

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Gln Leu Arg Asn Val Ser Glu Gln Glu Leu Asp Ser Val Ala Met

1

5

10

15

Lys Leu Leu His Gln Val Ser Lys Leu Cys Gly Lys Cys Ser Pro Thr

20

25

30

Asp Val Asp Ile Leu Gln Pro Ser Phe Asn Phe Leu Tyr Trp Ser Leu

35

40

45

His Gln Thr Thr Pro Ser Ser Gln Lys Arg Ala Ala Ala Val Leu Leu

50 55 60

Ser Ser Thr Gly Leu Met Glu Leu Leu Glu Lys Met Leu Ala Leu Thr

65 70 75 80

Leu Ala Lys Ala Asp Ser Pro Arg Thr Ala Leu Leu Cys Ser Ala Trp

85 90 95

Leu Leu Thr Ala Ser Phe Ser Ala Gln Gln His Lys Gly Ser Leu Gln

100 105 110

Val His Gln Thr Leu Ser Val Glu Met Asp Gln Val Leu Lys Ala Leu

115 120 125

Ser Phe Pro Lys Lys Ala Ala Leu Leu Ser Ala Ala Ile Leu Cys

130 135 140

Phe Leu Arg Thr Ala Leu Arg Gln Ser Phe Ser Ser Ala Leu Val Ala

145 150 155 160

Leu Val Pro Ser Gly Ala Gln Pro Leu Pro Ala Thr Lys Asp Thr Val

165 170 175

Leu Ala Pro Leu Arg Met Ser Gln Val Arg Ser Leu Val Ile Gly Leu

180 185 190

Gln Asn Leu Leu Val Gln Lys Asp Pro Leu Leu Ser Gln Ala Cys Val

195

200

205

Gly Cys Leu Glu Ala Leu Leu Asp Tyr Leu Asp Ala Arg Ser Pro Asp

210

215

220

Ile Ala Leu His Val Ala Ser Gln Pro Trp Asn Arg Phe Leu Leu Phe

225

230

235

240

Thr Leu Leu Asp Ala Gly Glu Asn Ser Phe Leu Arg Pro Glu Ile Leu

245

250

255

Arg Leu Met Thr Leu Phe Met Arg Tyr Arg Ser Ser Ser Val Leu Ser

260

265

270

His Glu Glu Val Gly Asp Val Leu Gln Gly Val Ala Leu Ala Asp Leu

275

280

285

Ser Thr Leu Ser Asn Thr Thr Leu Gln Ala Leu His Gly Phe Phe Gln

290

295

300

Gln Leu Gln Ser Met Gly His Leu Ala Asp His Ser Met Ala Gln Thr

305

310

315

320

Leu Gln Ala Ser Leu Glu Gly Leu Pro Pro Ser Thr Ser Ser Gly Gln

325

330

335

Pro Pro Leu Gln Asp Met Leu Cys Leu Gly Gly Val Ala Val Ser Leu

340

345

350

Ser His Ile Arg Asn

355

<210> 3

<211> 306

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(303)

<400> 3

atg cct aga agg gga cca caa cag act cga cag gat cca ccg gtt ggg 48

Met Pro Arg Arg Gly Pro Gln Gln Thr Arg Gln Asp Pro Pro Val Gly

1

5

10

15

ccc aag gca gga gga agg gcg gcg ccc cca aac tcc cag gac gcc tgc 96

Pro Lys Ala Gly Gly Arg Ala Ala Pro Pro Asn Ser Gln Asp Ala Cys

20

25

30

agc acc ccc cac gcg ccg ctc tcc gcc tct ggg gag cat cct gcc acc 144

Ser Thr Pro His Ala Pro Leu Ser Ala Ser Gly Glu His Pro Ala Thr

35

40

45

ccc cga cac aca cac ccc ggc tac atc ccg cct tct cac gct tgg tca 192

Pro Arg His Thr His Pro Gly Tyr Ile Pro Pro Ser His Ala Trp Ser

50 55 60

ggc gct ctg gag atg tcg gag atc cag gct ttt cct aaa gag tca gga 240

Gly Ala Leu Glu Met Ser Glu Ile Gln Ala Phe Pro Lys Glu Ser Gly

65 70 75 80

ttg gaa ggc gga ctc cca ccg ttt gct gag ctc cac atg aca aca gca 288

Leu Glu Gly Leu Pro Pro Phe Ala Glu Leu His Met Thr Thr Ala

85 90 95

gac gac agg ccg cac tga 306

Asp Asp Arg Pro His

100

<210> 4

<211> 101

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Pro Arg Arg Gly Pro Gln Gln Thr Arg Gln Asp Pro Pro Val Gly

1 5 10 15

Pro Lys Ala Gly Gly Arg Ala Ala Pro Pro Asn Ser Gln Asp Ala Cys

20 25 30

Ser Thr Pro His Ala Pro Leu Ser Ala Ser Gly Glu His Pro Ala Thr

35 40 45

Pro Arg His Thr His Pro Gly Tyr Ile Pro Pro Ser His Ala Trp Ser

50 55 60

Gly Ala Leu Glu Met Ser Glu Ile Gln Ala Phe Pro Lys Glu Ser Gly

65 70 75 80

Leu Glu Gly Gly Leu Pro Pro Phe Ala Glu Leu His Met Thr Thr Ala

85 90 95

Asp Asp Arg Pro His

100

<210> 5

<211> 942

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(939)

<400> 5

atg ccc tcg gca cag ccg cca ggc cgt ctt cct ggg gag ccg ccg gag 48

Met Pro Ser Ala Gln Pro Pro Gly Arg Leu Pro Gly Glu Pro Pro Glu

1 5 10 15

cgc ggg caa ctg gga gag ggg gcg gtg ccc agt tcc cgg ccc ggc cct	96		
Arg Gly Gln Leu Gly Glu Gly Ala Val Pro Ser Ser Arg Pro Gly Pro			
20	25	30	
ccc cgc gga ggt ggc cac gtc agc gca gcg tcg ctc gga gct cgc ggc	144		
Pro Arg Gly Gly His Val Ser Ala Ala Ser Leu Gly Ala Arg Gly			
35	40	45	
cgg atg ggg aag gcg gcg gcg gtg gcc ttt ggg gcc gaa gtg ggc	192		
Arg Met Gly Lys Ala Ala Ala Val Ala Phe Gly Ala Glu Val Gly			
50	55	60	
gtg cgg ctc gcg ctg ttc gcg gcc ttc ctg gtg acg gag ctg ctc ccc	240		
Val Arg Leu Ala Leu Phe Ala Ala Phe Leu Val Thr Glu Leu Leu Pro			
65	70	75	80
ccg ttc cag aga ctc atc cag ccg gag gag atg tgg ctc tac cgg aac	288		
Pro Phe Gln Arg Leu Ile Gln Pro Glu Glu Met Trp Leu Tyr Arg Asn			
85	90	95	
ccc tac gtg gag gcg gag tat ttc ccc acc aag ccg atg ttt gtt att	336		
Pro Tyr Val Glu Ala Glu Tyr Phe Pro Thr Lys Pro Met Phe Val Ile			
100	105	110	
gca ttt ctc tct cca ctg tct ctg atc ttc ctg gcc aaa ttt ctc aag	384		
Ala Phe Leu Ser Pro Leu Ser Leu Ile Phe Leu Ala Lys Phe Leu Lys			
115	120	125	
aag gca gac aca aga gac agc aga caa gcc tgc ctg gct gcc agc ctt	432		

Lys Ala Asp Thr Arg Asp Ser Arg Gln Ala Cys Leu Ala Ala Ser Leu

130

135

140

gcc ctg gct ctg aat ggc gtc ttt acc aac aca ata aaa ctg atc gta 480

Ala Leu Ala Leu Asn Gly Val Phe Thr Asn Thr Ile Lys Leu Ile Val

145

150

155

160

ggg agg cca cgc cca gat ttc ttc tac cgc tgc ttc cct gat ggg cta 528

Gly Arg Pro Arg Pro Asp Phe Phe Tyr Arg Cys Phe Pro Asp Gly Leu

165

170

175

gcc cat tct gac ttg atg tgt aca ggg gat aag gac gtg gtg aat gag 576

Ala His Ser Asp Leu Met Cys Thr Gly Asp Lys Asp Val Val Asn Glu

180

185

190

ggc cga aag agc ttc ccc agt gga cat tct tcc ttt gca ttt gct ggt 624

Gly Arg Lys Ser Phe Pro Ser Gly His Ser Ser Phe Ala Phe Ala Gly

195

200

205

ctg gcc ttt gcg tcc ttc tac ctg gca ggg aag tta cac tgc ttc aca 672

Leu Ala Phe Ala Ser Phe Tyr Leu Ala Gly Lys Leu His Cys Phe Thr

210

215

220

cca caa ggc cgt ggg aaa tct tgg agg ttc tgt gcc ttt ctg tca cct 720

Pro Gln Gly Arg Gly Lys Ser Trp Arg Phe Cys Ala Phe Leu Ser Pro

225

230

235

240

cta ctt ttt gca gct gtg att gca ctg tcc cgc aca tgt gac tac aag 768

Leu Leu Phe Ala Ala Val Ile Ala Leu Ser Arg Thr Cys Asp Tyr Lys

245

250

255

cat cac tgg caa gat gta cta gtt gga tcc atg att gga atg aca ttt 816
His His Trp Gln Asp Val Leu Val Gly Ser Met Ile Gly Met Thr Phe

260

265

270

gcc tat gtc tgc tat cgg cag tat tat cct cct ctg act gat gca gaa 864
Ala Tyr Val Cys Tyr Arg Gln Tyr Pro Pro Leu Thr Asp Ala Glu

275

280

285

tgc cat aaa cca ttt caa gac aaa ctt gta ctt tcc act gca cag aag 912
Cys His Lys Pro Phe Gln Asp Lys Leu Val Leu Ser Thr Ala Gln Lys

290

295

300

cct ggg gat tct tat tgt ttt gat att taa 942
Pro Gly Asp Ser Tyr Cys Phe Asp Ile

305

310

<210> 6

<211> 313

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Pro Ser Ala Gln Pro Pro Gly Arg Leu Pro Gly Glu Pro Pro Glu

1

5

10

15

Arg Gly Gln Leu Gly Glu Gly Ala Val Pro Ser Ser Arg Pro Gly Pro

20

25

30

Pro Arg Gly Gly Gly His Val Ser Ala Ala Ser Leu Gly Ala Arg Gly

35

40

45

Arg Met Gly Lys Ala Ala Ala Val Ala Phe Gly Ala Glu Val Gly

50

55

60

Val Arg Leu Ala Leu Phe Ala Ala Phe Leu Val Thr Glu Leu Leu Pro

65

70

75

80

Pro Phe Gln Arg Leu Ile Gln Pro Glu Glu Met Trp Leu Tyr Arg Asn

85

90

95

Pro Tyr Val Glu Ala Glu Tyr Phe Pro Thr Lys Pro Met Phe Val Ile

100

105

110

Ala Phe Leu Ser Pro Leu Ser Leu Ile Phe Leu Ala Lys Phe Leu Lys

115

120

125

Lys Ala Asp Thr Arg Asp Ser Arg Gln Ala Cys Leu Ala Ala Ser Leu

130

135

140

Ala Leu Ala Leu Asn Gly Val Phe Thr Asn Thr Ile Lys Leu Ile Val

145

150

155

160

Gly Arg Pro Arg Pro Asp Phe Phe Tyr Arg Cys Phe Pro Asp Gly Leu

165

170

175

Ala His Ser Asp Leu Met Cys Thr Gly Asp Lys Asp Val Val Asn Glu

180

185

190

Gly Arg Lys Ser Phe Pro Ser Gly His Ser Ser Phe Ala Phe Ala Gly

195

200

205

Leu Ala Phe Ala Ser Phe Tyr Leu Ala Gly Lys Leu His Cys Phe Thr

210

215

220

Pro Gln Gly Arg Gly Lys Ser Trp Arg Phe Cys Ala Phe Leu Ser Pro

225

230

235

240

Leu Leu Phe Ala Ala Val Ile Ala Leu Ser Arg Thr Cys Asp Tyr Lys

245

250

255

His His Trp Gln Asp Val Leu Val Gly Ser Met Ile Gly Met Thr Phe

260

265

270

Ala Tyr Val Cys Tyr Arg Gln Tyr Tyr Pro Pro Leu Thr Asp Ala Glu

275

280

285

Cys His Lys Pro Phe Gln Asp Lys Leu Val Leu Ser Thr Ala Gln Lys

290

295

300

Pro Gly Asp Ser Tyr Cys Phe Asp Ile

305

310

<210> 7

<211> 795

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(792)

<400> 7

atg ggg aag gcg gcg gcg gtg gcc ttt ggg gcc gaa gtg ggc gtg 48
Met Gly Lys Ala Ala Ala Val Ala Phe Gly Ala Glu Val Gly Val
1 5 10 15

cgg ctc gcg ctg ttc gcg gcc ttc ctg gtg acg gag ctg ctc ccc ccg 96
Arg Leu Ala Leu Phe Ala Ala Phe Leu Val Thr Glu Leu Leu Pro Pro
20 25 30

ttc cag aga ctc atc cag ccg gag gag atg tgg ctc tac cgg aac ccc 144
Phe Gln Arg Leu Ile Gln Pro Glu Glu Met Trp Leu Tyr Arg Asn Pro
35 40 45

tac gtg gag gcg gag tat ttc ccc acc aag ccg atg ttt gtt att gca 192
Tyr Val Glu Ala Glu Tyr Phe Pro Thr Lys Pro Met Phe Val Ile Ala
50 55 60

ttt ctc tct cca ctg tct ctg atc ttc ctg gcc aaa ttt ctc aag aag 240
Phe Leu Ser Pro Leu Ser Leu Ile Phe Leu Ala Lys Phe Leu Lys Lys
65 70 75 80

gca gac aca aga gac agc aga caa gcc tgc ctg gct gcc agc ctt gcc 288

Ala Asp Thr Arg Asp Ser Arg Gln Ala Cys Leu Ala Ala Ser Leu Ala

85

90

95

ctg gct ctg aat ggc gtc ttt acc aac aca ata aaa ctg atc gta ggg 336

Leu Ala Leu Asn Gly Val Phe Thr Asn Thr Ile Lys Leu Ile Val Gly

100

105

110

agg cca cgc cca gat ttc ttc tac cgc tgc ttc cct gat ggg cta gcc 384

Arg Pro Arg Pro Asp Phe Phe Tyr Arg Cys Phe Pro Asp Gly Leu Ala

115

120

125

cat tct gac ttg atg tgt aca ggg gat aag gac gtg gtg aat gag ggc 432

His Ser Asp Leu Met Cys Thr Gly Asp Lys Asp Val Val Asn Glu Gly

130

135

140

cga aag agc ttc ccc agt gga cat tct tcc ttt gca ttt gct ggt ctg 480

Arg Lys Ser Phe Pro Ser Gly His Ser Ser Phe Ala Phe Ala Gly Leu

145

150

155

160

gcc ttt gcg tcc ttc tac ctg gca ggg aag tta cac tgc ttc aca cca 528

Ala Phe Ala Ser Phe Tyr Leu Ala Gly Lys Leu His Cys Phe Thr Pro

165

170

175

caa ggc cgt ggg aaa tct tgg agg ttc tgt gcc ttt ctg tca cct cta 576

Gln Gly Arg Gly Lys Ser Trp Arg Phe Cys Ala Phe Leu Ser Pro Leu

180

185

190

ctt ttt gca gct gtg att gca ctg tcc cgc aca tgt gac tac aag cat 624
 Leu Phe Ala Ala Val Ile Ala Leu Ser Arg Thr Cys Asp Tyr Lys His
 195 200 205

cac tgg caa gat gta cta gtt gga tcc atg att gga atg aca ttt gcc 672
 His Trp Gln Asp Val Leu Val Gly Ser Met Ile Gly Met Thr Phe Ala
 210 215 220

tat gtc tgc tat cgg cag tat tat cct cct ctg act gat gca gaa tgc 720
 Tyr Val Cys Tyr Arg Gln Tyr Tyr Pro Pro Leu Thr Asp Ala Glu Cys
 225 230 235 240

cat aaa cca ttt caa gac aaa ctt gta ctt tcc act gca cag aag cct 768
 His Lys Pro Phe Gln Asp Lys Leu Val Leu Ser Thr Ala Gln Lys Pro
 245 250 255

ggg gat tct tat tgt ttt gat att taa 795
 Gly Asp Ser Tyr Cys Phe Asp Ile
 260

<210> 8

<211> 264

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Gly Lys Ala Ala Ala Ala Val Ala Phe Gly Ala Glu Val Gly Val
 1 5 10 15

Arg Leu Ala Leu Phe Ala Ala Phe Leu Val Thr Glu Leu Leu Pro Pro

20 25 30

Phe Gln Arg Leu Ile Gln Pro Glu Glu Met Trp Leu Tyr Arg Asn Pro

35 40 45

Tyr Val Glu Ala Glu Tyr Phe Pro Thr Lys Pro Met Phe Val Ile Ala

50 55 60

Phe Leu Ser Pro Leu Ser Leu Ile Phe Leu Ala Lys Phe Leu Lys Lys

65 70 75 80

Ala Asp Thr Arg Asp Ser Arg Gln Ala Cys Leu Ala Ala Ser Leu Ala

85 90 95

Leu Ala Leu Asn Gly Val Phe Thr Asn Thr Ile Lys Leu Ile Val Gly

100 105 110

Arg Pro Arg Pro Asp Phe Phe Tyr Arg Cys Phe Pro Asp Gly Leu Ala

115 120 125

His Ser Asp Leu Met Cys Thr Gly Asp Lys Asp Val Val Asn Glu Gly

130 135 140

Arg Lys Ser Phe Pro Ser Gly His Ser Ser Phe Ala Phe Ala Gly Leu

145 150 155 160

Ala Phe Ala Ser Phe Tyr Leu Ala Gly Lys Leu His Cys Phe Thr Pro

165

170

175

Gln Gly Arg Gly Lys Ser Trp Arg Phe Cys Ala Phe Leu Ser Pro Leu

180

185

190

Leu Phe Ala Ala Val Ile Ala Leu Ser Arg Thr Cys Asp Tyr Lys His

195

200

205

His Trp Gln Asp Val Leu Val Gly Ser Met Ile Gly Met Thr Phe Ala

210

215

220

Tyr Val Cys Tyr Arg Gln Tyr Tyr Pro Pro Leu Thr Asp Ala Glu Cys

225

230

235

240

His Lys Pro Phe Gln Asp Lys Leu Val Leu Ser Thr Ala Gln Lys Pro

245

250

255

Gly Asp Ser Tyr Cys Phe Asp Ile

260

<210> 9

<211> 876

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(873)

<400> 9

atg gct gcg gga gcc gcg gag agc acc agc tgt cgc cgc ggg agc tgc 48
Met Ala Ala Gly Ala Ala Glu Ser Thr Ser Cys Arg Arg Gly Ser Cys
1 5 10 15

tcc ggc cgc acc atg cgg gag ctg gcc att gag atc ggg gtg cga gcc 96
Ser Gly Arg Thr Met Arg Glu Leu Ala Ile Glu Ile Gly Val Arg Ala
20 25 30

ctg ctc ttc gga gtc ttc gtt ttt aca gag ttt ttg gat ccg ttc cag 144
Leu Leu Phe Gly Val Phe Val Phe Thr Glu Phe Leu Asp Pro Phe Gln
35 40 45

aga gtc atc cag cca gaa gag atc tgg ctc tat aaa aat cct ttg gtg 192
Arg Val Ile Gln Pro Glu Glu Ile Trp Leu Tyr Lys Asn Pro Leu Val
50 55 60

caa tca gat aac ata cct acc cgc ctc atg ttt gca att tct ttc ctc 240
Gln Ser Asp Asn Ile Pro Thr Arg Leu Met Phe Ala Ile Ser Phe Leu
65 70 75 80

aca ccc ctg gct att tgt gtg gtg aaa att atc cgg cga aca gac 288
Thr Pro Leu Ala Val Ile Cys Val Val Lys Ile Ile Arg Arg Thr Asp
85 90 95

aag act gaa att aag gaa gcc ttc tta gcg gtg tcc ttg gct ctt gct 336
Lys Thr Glu Ile Lys Glu Ala Phe Leu Ala Val Ser Leu Ala Leu Ala

100

105

110

ttg aat gga gtc tgc aca aac act att aaa tta ata gtg gga aga cct 384
Leu Asn Gly Val Cys Thr Asn Thr Ile Lys Leu Ile Val Gly Arg Pro

115

120

125

cgc ccc gat ttc ttt tac cgc tgc ttt cca gat gga gtg atg aac tcg 432
Arg Pro Asp Phe Phe Tyr Arg Cys Phe Pro Asp Gly Val Met Asn Ser

130

135

140

gaa atg cat tgc aca ggt gac ccc gat ctg gtg tcc gag ggc cgc aaa 480
Glu Met His Cys Thr Gly Asp Pro Asp Leu Val Ser Glu Gly Arg Lys
145 150 155 160

agc ttc ccc agc atc cat tcc tcc ttt gcc ttt tcg ggc ctt ggc ttc 528
Ser Phe Pro Ser Ile His Ser Ser Phe Ala Phe Ser Gly Leu Gly Phe
165 170 175

acg acg ttc tac ttg gcg ggc aag ctg cac tgc ttc acc gag agt ggg 576
Thr Thr Phe Tyr Leu Ala Gly Lys Leu His Cys Phe Thr Glu Ser Gly
180 185 190

cgg gga aag agc tgg cgg ctc tgt gct gcc atc ctg ccc ttg tac tgc 624
Arg Gly Lys Ser Trp Arg Leu Cys Ala Ala Ile Leu Pro Leu Tyr Cys
195 200 205

gcc atg atg att gcc ctg tcc cgc atg tgc gac tac aag cat cac tgg 672
Ala Met Met Ile Ala Leu Ser Arg Met Cys Asp Tyr Lys His His Trp
210 215 220

caa gat tcc ttt gtg ggt gga gtc atc ggc ctc att ttt gca tac att 720

Gln Asp Ser Phe Val Gly Gly Val Ile Gly Leu Ile Phe Ala Tyr Ile

225 230 235 240

tgc tac aga cag cac tat cct cct ctg gcc aac aca gct tgc cat aaa 768

Cys Tyr Arg Gln His Tyr Pro Pro Leu Ala Asn Thr Ala Cys His Lys

245 250 255

ccc tac gtt agt ctg cga gtc cca gcc tca ctg aag aaa gag gag agg 816

Pro Tyr Val Ser Leu Arg Val Pro Ala Ser Leu Lys Lys Glu Glu Arg

260 265 270

ccc aca gct gac agc gca ccc agc ttg cct ctg gag ggg atc acc gaa 864

Pro Thr Ala Asp Ser Ala Pro Ser Leu Pro Leu Glu Gly Ile Thr Glu

275 280 285

ggc ccg gta tga 876

Gly Pro Val

290

<210> 10

<211> 291

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Met Ala Ala Gly Ala Ala Glu Ser Thr Ser Cys Arg Arg Gly Ser Cys

1

5

10

15

Ser Gly Arg Thr Met Arg Glu Leu Ala Ile Glu Ile Gly Val Arg Ala

20

25

30

Leu Leu Phe Gly Val Phe Val Phe Thr Glu Phe Leu Asp Pro Phe Gln

35

40

45

Arg Val Ile Gln Pro Glu Glu Ile Trp Leu Tyr Lys Asn Pro Leu Val

50

55

60

Gln Ser Asp Asn Ile Pro Thr Arg Leu Met Phe Ala Ile Ser Phe Leu

65

70

75

80

Thr Pro Leu Ala Val Ile Cys Val Val Lys Ile Ile Arg Arg Thr Asp

85

90

95

Lys Thr Glu Ile Lys Glu Ala Phe Leu Ala Val Ser Leu Ala Leu Ala

100

105

110

Leu Asn Gly Val Cys Thr Asn Thr Ile Lys Leu Ile Val Gly Arg Pro

115

120

125

Arg Pro Asp Phe Phe Tyr Arg Cys Phe Pro Asp Gly Val Met Asn Ser

130

135

140

Glu Met His Cys Thr Gly Asp Pro Asp Leu Val Ser Glu Gly Arg Lys

145

150

155

160

Ser Phe Pro Ser Ile His Ser Ser Phe Ala Phe Ser Gly Leu Gly Phe

165

170

175

Thr Thr Phe Tyr Leu Ala Gly Lys Leu His Cys Phe Thr Glu Ser Gly

180

185

190

Arg Gly Lys Ser Trp Arg Leu Cys Ala Ala Ile Leu Pro Leu Tyr Cys

195

200

205

Ala Met Met Ile Ala Leu Ser Arg Met Cys Asp Tyr Lys His His Trp

210

215

220

Gln Asp Ser Phe Val Gly Gly Val Ile Gly Leu Ile Phe Ala Tyr Ile

225

230

235

240

Cys Tyr Arg Gln His Tyr Pro Pro Leu Ala Asn Thr Ala Cys His Lys

245

250

255

Pro Tyr Val Ser Leu Arg Val Pro Ala Ser Leu Lys Lys Glu Glu Arg

260

265

270

Pro Thr Ala Asp Ser Ala Pro Ser Leu Pro Leu Glu Gly Ile Thr Glu

275

280

285

Gly Pro Val

290

<210> 11

<211> 816

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(813)

<400> 11

atg cgg gag ctg gcc att gag atc ggg gtg cga gcc ctg ctc ttc gga 48

Met Arg Glu Leu Ala Ile Glu Ile Gly Val Arg Ala Leu Leu Phe Gly

1

5

10

15

gtc ttc gtt ttt aca gag ttt ttg gat ccg ttc cag aga gtc atc cag 96

Val Phe Val Phe Thr Glu Phe Leu Asp Pro Phe Gln Arg Val Ile Gln

20

25

30

cca gaa gag atc tgg ctc tat aaa aat cct ttg gtg caa tca gat aac 144

Pro Glu Glu Ile Trp Leu Tyr Lys Asn Pro Leu Val Gln Ser Asp Asn

35

40

45

ata cct acc cgc ctc atg ttt gca att tct ttc ctc aca ccc ctg gct 192

Ile Pro Thr Arg Leu Met Phe Ala Ile Ser Phe Leu Thr Pro Leu Ala

50

55

60

gtt att tgt gtg gtg aaa att atc cgg cga aca gac aag act gaa att 240

Val Ile Cys Val Val Lys Ile Ile Arg Arg Thr Asp Lys Thr Glu Ile

65

70

75

80

aag gaa gcc ttc tta gcg gtg tcc ttg gct ctt gct ttg aat gga gtc 288

Lys Glu Ala Phe Leu Ala Val Ser Leu Ala Leu Ala Leu Asn Gly Val

85

90

95

tgc aca aac act att aaa tta ata gtg gga aga cct cgc ccc gat ttc 336

Cys Thr Asn Thr Ile Lys Leu Ile Val Gly Arg Pro Arg Pro Asp Phe

100

105

110

ttt tac cgc tgc ttt cca gat gga gtg atg aac tcg gaa atg cat tgc 384

Phe Tyr Arg Cys Phe Pro Asp Gly Val Met Asn Ser Glu Met His Cys

115

120

125

aca ggt gac ccc gat ctg gtg tcc gag ggc cgc aaa agc ttc ccc agc 432

Thr Gly Asp Pro Asp Leu Val Ser Glu Gly Arg Lys Ser Phe Pro Ser

130

135

140

atc cat tcc tcc ttt gcc ttt tcg ggc ctt ggc ttc acg acg ttc tac 480

Ile His Ser Ser Phe Ala Phe Ser Gly Leu Gly Phe Thr Thr Phe Tyr

145

150

155

160

ttg gcg ggc aag ctg cac tgc ttc acc gag agt ggg cgg gga aag agc 528

Leu Ala Gly Lys Leu His Cys Phe Thr Glu Ser Gly Arg Gly Lys Ser

165

170

175

tgg cgg ctc tgt gct gcc atc ctg ccc ttg tac tgc gcc atg atg att 576

Trp Arg Leu Cys Ala Ala Ile Leu Pro Leu Tyr Cys Ala Met Met Ile

180

185

190

gcc ctg tcc cgc atg tgc gac tac aag cat cac tgg caa gat tcc ttt 624

Ala Leu Ser Arg Met Cys Asp Tyr Lys His His Trp Gln Asp Ser Phe

195

200

205

gtg ggt gga gtc atc ggc ctc att ttt gca tac att tgc tac aga cag 672

Val Gly Gly Val Ile Gly Leu Ile Phe Ala Tyr Ile Cys Tyr Arg Gln

210

215

220

cac tat cct cct ctg gcc aac aca gct tgc cat aaa ccc tac gtt agt 720

His Tyr Pro Pro Leu Ala Asn Thr Ala Cys His Lys Pro Tyr Val Ser

225

230

235

240

ctg cga gtc cca gcc tca ctg aag aaa gag gag agg ccc aca gct gac 768

Leu Arg Val Pro Ala Ser Leu Lys Lys Glu Glu Arg Pro Thr Ala Asp

245

250

255

agc gca ccc agc ttg cct ctg gag ggg atc acc gaa ggc ccg gta tga 816

Ser Ala Pro Ser Leu Pro Leu Glu Gly Ile Thr Glu Gly Pro Val

260

265

270

<210> 12

<211> 271

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Arg Glu Leu Ala Ile Glu Ile Gly Val Arg Ala Leu Leu Phe Gly

1

5

10

15

Val Phe Val Phe Thr Glu Phe Leu Asp Pro Phe Gln Arg Val Ile Gln

20

25

30

Pro Glu Glu Ile Trp Leu Tyr Lys Asn Pro Leu Val Gln Ser Asp Asn

35

40

45

Ile Pro Thr Arg Leu Met Phe Ala Ile Ser Phe Leu Thr Pro Leu Ala

50

55

60

Val Ile Cys Val Val Lys Ile Ile Arg Arg Thr Asp Lys Thr Glu Ile

65

70

75

80

Lys Glu Ala Phe Leu Ala Val Ser Leu Ala Leu Ala Asn Gly Val

85

90

95

Cys Thr Asn Thr Ile Lys Leu Ile Val Gly Arg Pro Arg Pro Asp Phe

100

105

110

Phe Tyr Arg Cys Phe Pro Asp Gly Val Met Asn Ser Glu Met His Cys

115

120

125

Thr Gly Asp Pro Asp Leu Val Ser Glu Gly Arg Lys Ser Phe Pro Ser

130

135

140

Ile His Ser Ser Phe Ala Phe Ser Gly Leu Gly Phe Thr Thr Phe Tyr

145

150

155

160

Leu Ala Gly Lys Leu His Cys Phe Thr Glu Ser Gly Arg Gly Lys Ser

165

170

175

Trp Arg Leu Cys Ala Ala Ile Leu Pro Leu Tyr Cys Ala Met Met Ile

180

185

190

Ala Leu Ser Arg Met Cys Asp Tyr Lys His His Trp Gln Asp Ser Phe

195

200

205

Val Gly Gly Val Ile Gly Leu Ile Phe Ala Tyr Ile Cys Tyr Arg Gln

210

215

220

His Tyr Pro Pro Leu Ala Asn Thr Ala Cys His Lys Pro Tyr Val Ser

225

230

235

240

Leu Arg Val Pro Ala Ser Leu Lys Lys Glu Glu Arg Pro Thr Ala Asp

245

250

255

Ser Ala Pro Ser Leu Pro Leu Glu Gly Ile Thr Glu Gly Pro Val

260

265

270

<210> 13

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially

synthesized primer sequence

<400> 13

cgcgcggttc cgccaccatg cagctcagga atgtgtc

37

<210> 14

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 14

gcgcgcgtcgaa gttttctgtat gtgggacagg g

31

<210> 15

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 15

gcgcaagct tgccaccatg cctagaaggg gaccaca

37

<210> 16

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 16

gcgcgctcga ggtgcggcct gtcgtctgct

30

<210> 17

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 17

gcgcaagct tgccaccatg ccctcggcac agccg

35

<210> 18

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 18

gcgcgctcga gaatatcaaa acaataagaa tcccc

35

<210> 19

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 19

gcgcgaagct tgccaccatg gggaggcg cgccg

35

<210> 20

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 20

gcgcgaagct tgccaccatg gctgcgggag ccgcg

35

<210> 21

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 21

gcgcgctcga gtaccgggcc ttcggtgatc

30

<210> 22

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 22

gcgcgaagct tgccaccatg cgggagctgg ccattg 36

<210> 23

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 23

tcgaggacta caaggacgac gatgacaaggc t 31

<210> 24

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 24

ctagagcttg tcatcgctgt cctttagtc c

31

<210> 25

<211> 16

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 25

cacgtggcct cccagc

16

<210> 26

<211> 24

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 26

tagttctcc catttgcgt tttt

24

<210> 27

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 27

cccttgaaca acgcaggttc

20

<210> 28

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 28

ttttaggga cacccacctg

20

<210> 29

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 29

cttccaagggt gcaagtgagg a

21

<210> 30

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 30

cattggaggc agaatacagt gtg

23

<210> 31

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 31

tcctgggagg atggacacta

20

<210> 32

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 32

tgatgtcagg gtggcagatg t

21

<210> 33

<211> 18

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 33

ggaaaggta aggtcgga

18

<210> 34

<211> 17

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 34

gcagccctgg tgaccag

17

【0020】

【図面の簡単な説明】

【図1】

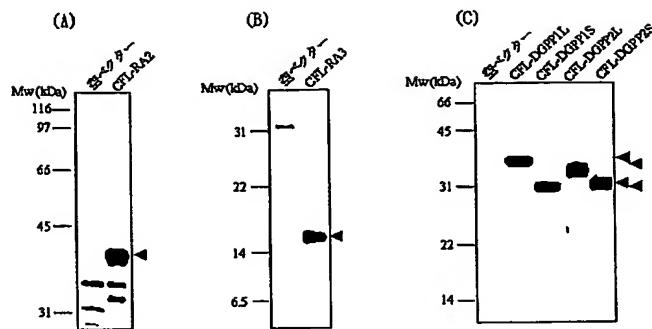
各新規蛋白質の発現を示した図である。

【図2】 RA滑膜線維芽様細胞、OA線維芽様細胞における各遺伝子の発現量を比較した図である。

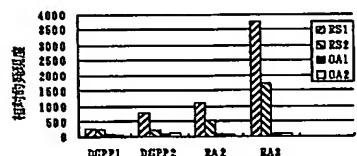
【書類名】

図面

【図 1】



【図 2】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 本発明は、慢性関節リウマチ（RA）で発現量が亢進している新規分子を提供することを課題とする。

【解決手段】 ヒト変形性関節症（OA）患者滑膜組織に比較して、ヒトRA患者滑膜組織において発現量が亢進している新規遺伝子RA2、RA3、DGPP1L、DGPP1S、DGPP2L、DGPP2Sの全長配列を決定することに成功した。さらに、該遺伝子特異的なポリメラーゼ連鎖反応（PCR）プライマーを用いることによりRA診断法として有用な検査方法を可能にした。

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2002-211951
受付番号	50201068576
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0094
作成日	平成14年 7月26日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成14年 7月22日
-------	-------------

次頁無

特願 2002-211951

出願人履歴情報

識別番号 [000006677]

1. 変更年月日 1990年 8月10日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都中央区日本橋本町2丁目3番11号
氏 名 山之内製薬株式会社

特願 2002-211951

出願人履歴情報

識別番号 [502263891]

1. 変更年月日 2002年 7月22日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都新宿区河田町10-22 東京女子医科大学附属 膠原
病リウマチ痛風センター内

氏 名 針谷 正祥